Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 351-362

Investigating the Effect of Foliar Applied Proline on the Photosynthetic Pigments Content and Osmolytes of Pistachio Rootstock UCB1 under Water Stress Conditions

M. Fattahi[1*]- A. Mohammadkhani[2]

Received: 23-02-2022
Revised: 30-08-2022
Accepted: 11-09-2022
Available Online: 11-09-2022

How to cite this article:
Fattahi, M., & Mohammadkhani, A. (2023). Investigating the effect of foliar applied proline on the photosynthetic pigments content and osmolytes of pistachio rootstock UCB1 under water wtress conditions. *Journal of Horticultural Science, 37*(2), 351-362. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.75455.1145

Introduction

UCB-1 hybrid rootstock is propagated from the seed of a controlled cross between a *P. atlantica* female and a *P. integerrima* male. Clonal propagation of this rootstock is also necessary since it produces identical genotypes. UCB1 has recently been introduced in Iran. However, little research has been done on this subject. Water stress is one of the most important environmental stresses and occurs for several reasons, including low rainfall, high and low temperatures, salinity, and high intensity of light, among others. Drought stress is a multidimensional stress and causes changes in the physiological, morphological, biochemical, and molecular traits in plants. Proline is also found widely in plants and accumulates in large quantities in response to environmental stresses such as drought. It is the essential amino acids that accumulate in different tissues of the plant, especially in the leaves through the effect of water stress, and that the accumulation of it has a function in the regulation of osmosis in the cell as the proline is increased in the cytoplasm to counterbalance effort osmosis cell sap. Proline is an indicator of water stress tolerance and its increase in the leaf proof that the plant suffered drought stress, also is the way the plant tolerance to drought stress.

Materials and Methods

A pot experiment was conducted, to investigate the effectiveness of foliar applied proline in mitigating the concurrent effects of drought stresses on UCB1 rootstock, at greenhouse of Faculty of Agriculture, University of Shahrekord. Experiment was carried out in a completely randomized design with split arrangement having three replications. Chl. and carotenoid contents were determined according to Lichtenthaler (1987). Leaf discs were obtained from expanded leaves of each pot in the morning. The leaf discs were weighed immediately to obtain the fresh weight (FW), and submerged in distilled water for 4 h at 4°C in dark condition and then weighed to prepare turgor weight (TW). The leaves were dried in a forced-air oven at 70°C for 24 h, and the dry weight (DW) was recorded. The RWC of samples was calculated using the following equation (Bastam *et al*., 2012):
$RWC = [(FW–DW)/(TW–DW)] \times 100$

Levels of glycine betaine were quantified as described previously by Arakawa *et al*. (1990). To determine the free-proline concentration, leaves were homogenized in 5 ml of ethanol at 95%. Proline concentration was calculated with a standard curve and expressed as µg g^{-1}fresh mass (Paquin and Lechasseur, 1979).

Results and Discussion

The UCB1 proximate analysis in the present study depicted that imposition of drought stress increased the

1- Instructor of Horticultural Products Department, Technical and Vocational University, Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: Ma.fatahi67@gmail.com)
2- Asociated Professor at Department of Horticultral Sciences, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2022.75455.1145

leaf and root proline content and electrolyte leakage. Exogenous application of proline as foliar spray significantly increased the moisture content of leaf and root, RWC, Chl a and total chlorophyll. Exogenous proline application upregulated leaf and root proline contents and decreased the lipid peroxidation (decrease electrolyte leakage), resulting into improvement in chlorophyll contents. 150 mg. l^{-1} proline application gave maximum alleviation against stress.

Numerous reports depict that the exogenous application of proline as a foliar spray can play an important role in enhancing plant tolerance against drought stress, and our results are consistent with them. This ameliorating effect of exogenously applied proline can take the form of osmoprotection, cryoprotection, or protection against reactive oxygen species.For example, in various plant species growing under stress conditions, exogenously supplied proline provided osmoprotection and facilitated plant growth. Normally, proline accumulation in plants, is in response to drought or salinity stress occurs in the cytosol where it contributes substantially to the cytoplasmic osmotic adjustment. It actively takes part in plant osmotic adjustment under stressful environmental conditions. In addition to its role as an osmolyte for osmotic adjustment, it actively takes part to stabilize subcellular structures, biological membranes, proteins, and scavenge free radicals. It also plays a vital role in buffering cellular redox potential under stressful environmental conditions.

Conclusion

In summary, our results showed that, drought induces a decrease in moisture content, RWC, T Chl and carotenoids and an increase in some osmoregulators (proline, glycine betaine, TSC). The most favorable treatment was 150 mg.l-1 proline foliar spray. 150 mg.l^{-1} proline application gave maximum alleviation against stress. Foliar application increased the moisture content of leaf and root, as well as increased the Chl a, total, RWC and proline content of leaf and root. It can be suggested that the foliar application of proline (150 mg L^{-1}) used as a plants defense factor against drought stress conditions.

Keywords: Amino acid, Drought, Electrolyte leakage, Relative leaf water content

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱٤۰۲، ص. ۳٦۲-۳٥۱

بررسی تاثیر محلول‌پاشی پرولین بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و اسمولیت‌های پایه UCB1 پسته در شرایط تنش آبی

مسعود فتاحی[1*] - عبدالرحمان محمدخانی[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۰۴
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۶/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۰

چکیده

باتوجه به مشکلات کم‌آبی در بیشتر مناطق ایران استفاده از اسیدهای آمینه می‌تواند در کاهش اثرات زیانبار تنش خشکی بر محصولات مختلف مانند کاهش رشد و عملکرد موثر باشد. زیرا اسیدهای آمینه مانند پرولین منجر به تنظیم بهتر اسمزی سلول شده و به ادامه فعالیت سلول در شرایط تنش خشکی کمک می‌کند. در این راستا آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بصورت گلدانی طراحی و اجرا شد. تیمارهای استفاده شده در این آزمایش شامل اعمال تنش خشکی در سه سطح (۱۰۰ درصد (شاهد)، ۷۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) و محلول‌پاشی برگی پرولین در سه سطح (صفر (شاهد)، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آب) بود. نتایج نشان داد، درصد رطوبت ریشه در تیمار ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آب پرولین نسبت به شاهد بیشتر بود. با افزایش شدت تنش خشکی غلظت کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها کاهش یافت. هر دو سطح تیمار پرولین باعث افزایش کلروفیل کل نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی پرولین (سطح صفر) گردید. گلایسین‌بتائین برگ، قند محلول برگ و ریشه، نشت الکترولیت‌ها و پرولین برگ و ریشه با شدت تنش خشکی افزایش یافت. محلول‌پاشی پرولین باعث کاهش نشت الکترولیت و افزایش محتوای نسبی آب برگ (LRWC) و پرولین برگ و ریشه گردید. نتایج نشان داد محلول‌پاشی برگی پرولین می‌تواند با افزایش درصد رطوبت برگ و ریشه، RWC، غلظت کلروفیل، غلظت پرولین برگ و ریشه و کاهش نشت الکترولیت‌ها تحمل پایه UCB1 در برابر کمبود آب را بهبود دهد.

واژه‌های کلیدی: اسید آمینه، خشکی، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت

مقدمه

پسته اهلی (*Pistacia vera* L.) گیاهی نیمه‌گرمسیری از تیره پسته‌سانان[3] است. ایران مهم‌ترین تولیدکننده پسته و مرکز تنوع گونه‌های پسته در دنیا می‌باشد (Bagheri *et al*., 2012). در کشت و کار پسته، پایه یکی از مهم‌ترین مسائلی است که بایستی در هنگام احداث باغ به آن توجه نمود. در جنس پسته ۱۳ گونه وجود دارد که تنها میوه‌های گونه ورا مصرف خوراکی دارد و سایر گونه‌ها و برخی هیبریدهای آن‌ها به عنوان پایه برای ژنوتیپ‌های تجاری پسته استفاده می‌شوند. مهم‌ترین این پایه‌ها عبارتند از: پسته اهلی شامل ژنوتیپ بادامی‌ریززرند، قزوینی، سرخس، خنجری، بنه یا چاتلانقوش، کسور یا خنجوک، آتلانتیکا، تربنتوس، اینتگریما و UCB1[4] که از گرده‌افشانی دستی کنترل شده گرده‌های گونه اینتگریما (والد پدری) روی کلاله‌های گونه آتلانتیکا (والد مادری) بدست آمده است (Raoufi *et al*., 2020;Ferguson *et al*., 2005).

رشد جهانی جمعیت و تقاضا برای آب، مواد غذایی، انرژی و استفاده بی‌رویه از منابع آب موجود از یک طرف و از طرف دیگر

۱- مربی گروه تولیدات باغی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Ma.fatahi67@gmail.com)
۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
DOI: 10.22067/jhs.2022.75455.1145
3- Anacardiaceae
4- University of California, Berkley

تغییرات اقلیمی گسترده باعث ایجاد تنش خشکی شده است. محدودیت آب در گیاهان باعث کم شدن آب بافت، بسته شدن روزنه ها، محدود شدن تبادلات گازی، کاهش فتوسنتز و در نهایت مرگ گیاه می‌شود. با این حال توانایی گیاه برای زنده ماندن تحت شرایط ذکر شده بستگی به گونه گیاهی، مرحله رشد، مدت زمان و شدت کمبود آب دارد (Raoufi *et al*., 2020Khoyerdi *et al*., 2016 ;). در تحقیقات مختلف ثابت شده که پاسخ گیاهان به تنش خشکی معمولا از طریق تغییر در شاخص‌های فیزیولوژیکی از قبیل پتانسیل آب، محتوای نسبی آب، واکنش‌های روزنه‌ای، فتوسنتز و تنظیم اسمزی انجام می‌شود (Bolat *et al*., 2014). خویردی و همکاران (Khoyerdi *et al*., 2016) در ارزیابی مقاومت به خشکی دانهال‌های پسته نشان دادند که تنش خشکی سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل، کارتنوئید، پرولین، گلایسین بتائین و قندهای محلول نسبت به تیمار شاهد گردید. آن‌ها بیان کردند تجمع مواد و تنظیم‌کننده اسمزی باعث بهبود روابط آبی و تولید وزن خشک بیشتر در شرایط تنش خشکی می‌شود.

تنظیم اسمزی متضمن افزایش در تعداد مولکول‌های محلول درون سلول‌ها در پاسخ به کاهش پتانسیل آب خارجی است. در اثر فرایندهای تعدیل اسمزی، مواد حل شونده‌ای نظیر اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه آزاد بویژه پرولین، کربوهیدرات‌ها (ساکارز، گلوکز، سوربیتول، مانیتول، گلیسرول و ترهالوز) و ترکیبات آمونیومی متیله‌شده‌ای نظیر گلایسین‌بتائین در سیتوپلاسم سلول‌ها تجمع پیدا می کند. این ترکیبات از طریق کاهش پتانسیل اسمزی سلول شرایط لازم برای رشد را فراهم می‌کنند (Volkmar and Taylor, 1996 ; Steppuhn, 1997). این مواد حل‌شونده که به متابولیت‌های سازگار یا مواد تنظیم کننده اسمزی معروفند، ترکیبات آلی خنثی، غیرسمی و آبدوست هستند که در غلظت‌های بالا، تاثیر مخربی بر فعالیت درشت مولکول‌ها یا فعالیت آنزیمی سلول‌ها ندارند. تجمع پرولین آزاد، یکی از معمول‌ترین تغییرات متابولیکی است که تحت تاثیر تنش‌های مختلف به‌ویژه تنش خشکی در گیاهان گزارش شده است (Taylor, 1996). همچنین به عنوان یکی از عوامل کنترل کننده آب سلول در کاهش اثرات مضر کم آبی و در نتیجه بهبود رشد و ویژگی‌های فیزیولوژیکی مانند محتوای نسبی آب برگ و غلظت کلروفیل نقش دارد (*et al*., Alkahtan 2021). کاربرد خارجی پرولین با کاهش اثرات مضر گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب اکسیداتیو باعث افزایش رشد گیاهان مختلف از جمله گل همیشه‌بهار و جو شده است (Kaur and Asthir, 2015 ; Abdelaal *et al*., 2018; Abdelaal *et al*., 2020). همچنین بیان شده که این اسیدآمینه در تنش‌های غیرزنده باعث ایجاد تغییرات ساختاری و فراساختاری مانند بهبود سطح ریشه گیاهان شده و باعث مقابله با کمبود آب و مواد مغذی می شود (Godoy *et al*., 2021). اثرات مثبت پرولین در افزایش تعداد ریشه و ایجاد تغییرات ساختاری در ساقه و برگ برنج در تنش شوری مشاهده شده (The *et al*., 2016) همچنین کاربرد آن باعث بهبود روابط آبی در گیاه چغندر شده است (Ghaffaria *et al*., 2021). در پژوهشی که بر روی ذرت انجام شد نتایج نشان داد که محدودیت در آبیاری منجر به کاهش رشد و میزان کلروفیل a و b گردید اما استفاده از محلول‌پاشی برگی پرولین باعث بهبود رشد و افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی شد (Ali *et al*., 2007). در بررسی تاثیر محلول‌پاشی پرولین بر مقاومت به شوری نهال‌های زیتون نتایج نشان داد در اثر تنش شوری، روابط آبی، فعالیت فتوسنتزی و محتوای کلروفیل کل کاهش یافت اما کاربرد خارجی پرولین، باعث افزایش فعالیت فتوسنتزی و خصوصیات رشدی نسبت به گیاهانی که با پرولین تیمار نشده بودند شد (Ben-Ahamed *et al*., 2010). در مطالعه دیگر تاثیر محلول‌پاشی پرولین بر خصوصیات آنتی اکسیدانی سه گونه مرکبات در شرایط تنش دمایی بررسی شد که نتایج نشان داد محلول‌پاشی پرولین باعث کاهش اثرات دمای بالا گردید و سطح پرولین درون‌زا افزایش یافت (Mohammadrezakhani *et al*., 2019). محلول‌پاشی اسیدآمینه پرولین به منظور کاهش اثرات مخرب تنش‌ها در محصولات مختلف استفاده شده و نتایج مثبتی گزارش شده است. از طرف دیگر، با توجه به این‌که بیشتر مناطق پسته کاری ایران با محدودیت آب مواجه هستند، بنابراین بررسی تاثیر کمبود آب بر خصوصیات مختلف پایه UCB1 به عنوان یک پایه که در حال گسترش است ضروری می‌باشد. هدف از این پژوهش بررسی اثر محلول‌پاشی سطوح مختلف پرولین بر صفات بیوشیمیایی (برخی رنگدانه‌های برگ و اسمولیت‌های برگ و ریشه) و فیزیولوژیکی (میزان آب برگ و درصد رطوبت برگ، ساقه و ریشه) گیاهان UCB1 تحت رژیم‌های کم آبیاری در شرایط گلدانی بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور بررسی تاثیر کاربرد برگی پرولین بر خصوصیات فیزیولوژیکی پایه پسته UCB1 در شرایط تنش آبی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، هر تکرار شامل سه گیاه، در شرایط گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد (در ارتفاع ۲۰۷۴ متری از سطح دریا ۳۲ درجه و ۲۱ دقیقه عرض شمالی و طول شرقی ۴۹ درجه و ۲۲ دقیقه) در سال ۱۳۹۶ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش خشکی در سه سطح ۱۰۰ (شاهد)، ۷۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و محلولپاشی پرولین نیز در سه سطح صفر (شاهد)، ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر بود. دانهال‌های کشت بافتی UCB1 (دارای ۳ تا ۵ برگ تهیه‌شده از یک آزمایشگاه کشت بافت اصفهان) پس از سازگار شدن به محیط گلخانه، در گلدان‌های ۵ لیتری دارای بستر کشت مخلوط خاک و ماسه به نسبت دو به یک با

پی‌اچ ۷/۵۴ و هدایت الکتریکی ۰/۹ دسی‌زیمنس بر متر کاشته شدند و به مدت ۳ ماه در گلخانه با میانگین دمای ۲۸ درجه سانتیگراد رشد کردند. تنش خشکی بعد از سه ماه براساس ظرفیت زراعی، بصورت وزنی با محدودیت آب آبیاری به مدت ۶۰ روز اعمال گردید. پرولین استفاده شده در این آزمایش از شرکت مرک آلمان با خلوص ۹۵ درصد بود. محلول‌پاشی پرولین در سه مرحله، به ترتیب یک مرحله قبل از آغاز اعمال تنش خشکی (۳ ماه پس از کاشت) و دو مرحله در طول اعمال تنش (۲۰ و ۴۰ روز پس از اعمال تنش) انجام شد گیاهان شاهد نیز در این سه مرحله با آب مقطر بدون پرولین اسپری شدند. پس از پایان تنش خشکی اندام‌های ریشه، ساقه و برگ پایه UCB1 جدا شد و وزن تر آن‌ها محاسبه گردید. سپس اندام‌های مختلف به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند تا خشک شوند و وزن خشک محاسبه شد. با استفاده از وزن تر و خشک این اندام‌ها درصد رطوبت هر اندام با استفاده از رابطه زیر برآورد گردید.

وزن تر/ {۱۰۰ × (وزن تر – وزن خشک)} = درصد رطوبت اندام

میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها بعد از اعمال تنش با استفاده از روش لیچتنالر (Lichtenthaler, 1987) با نمونه‌گیری تصادفی از برگ‌های بالغ و عصاره‌گیری با استون اندازه‌گیری شد.

$$Chla\ (mg.g^{-1}\ fw) = \{12.25\ (A663.2) - 2.79\ (A646.8)\} \times V/1000 \times W$$

$$Chlb\ (mg.g^{-1}\ fw) = \{25.51(A646.8) - 5.10\ (A663.2)\} \times V/1000 \times W$$

$$ChT\ (mg.g^{-1}\ fw) = Chlb + Chla$$

$$Car\ (mg.g^{-1}\ fw) = [(1000\ (A470) - 1.8\ (chla) - 85.02\ (chlb)\ /198]$$

در روابط فوق A میزان جذب قرائت شده، V حجم استون مصرف شده و W وزن خشک نمونه (گرم) می‌باشد.

برای اندازه‌گیری میزان نسبی آب برگ (RWC)، ابتدا ۱۰ عدد دیسک به قطر ۰/۵ سانتی‌متر از پهنک برگ بالغ و جوان به‌وسیله پانچ تهیه و وزن تر (FW) تعیین گردید. پس از توزین داخل شیشه‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۴ ساعت در دمای صفر الی ۴ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار گرفت تا سلول‌های برگ به حالت تورژسانس کامل درآیند. در ادامه دیسک‌ها را روی کاغذ صافی قرار داده تا رطوبت اضافی آن‌ها حذف شود، سپس وزن تورژسانس (TW) نمونه‌ها تعیین شد و درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک و وزن خشک (DW) اندازه‌گیری شد. سپس RWC با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$RWC = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100$$

به منظور تعیین پایداری غشاء سلولی در برگ، از اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت به روش بستام و همکاران (Bastam *et al.*, 2013) استفاده شد. برای اندازه‌گیری غلظت پرولین آزاد، یک گرم از برگ و ریشه نهال‌ها در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد همگن شد. پس از جداسازی فاز مایع از جامد، معرف ناین‌هیدرین و اسید استیک گلاسیال به نمونه‌ها افزوده و در حمام آب گرم (۴۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه‌سانتیگراد) قرار داده شدند. پس از اضافه کردن ۱۰ میلی‌لیتر بنزن، جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. غلظت پرولین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (Paquin and Lechasseur, 1979). گلایسین بتائین نمونه‌های برگ و ریشه خشک شده در دمای ۵۵ درجه‌سانتیگراد به روش آراکاوا و همکاران (Arakawa *et al.*, 1990) با استفاده از محلول ید در یدید پتاسیم اندازه‌گیری شد. قند محلول برگ و ریشه به روش اریگون و همکاران (Irigoyen *et al.*, 1992) با استفاده از آنترون تازه تهیه‌شده و قرائت میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار *SPSS* 25 و مقایسه بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ($p<0.05$) صورت گرفت و نمودارها توسط نرم افزار اکسل رسم شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثرات متقابل تنش خشکی و پرولین بر درصد رطوبت برگ و درصد رطوبت ساقه معنی‌دار بود. همچنین اثرات ساده تیمارهای خشکی بر درصد رطوبت ریشه، کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها و تیمارهای پرولین بر درصد رطوبت ریشه، کلروفیل a و کل در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد تنش خشکی به‌طور معنی‌داری باعث کاهش درصد رطوبت ریشه، نسبت وزن خشک شاخساره به ریشه، کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها شد (جدول ۲). کمترین نسبت وزن خشک شاخساره به ریشه و درصد رطوبت ریشه به ترتیب با میانگین۰/۶۲ و ۴۳/۸ درصد در سطح ۴۰ درصد ظرفیت زراعی تنش خشکی مشاهده شد. همچنین محتوای کلروفیل کل در بالاترین سطح تنش خشکی به میزان ۵۰/۹ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت. محتوای کارتنوئید برگ تنها در سطح ۴۰ درصد ظرفیت زراعی تنش خشکی نسبت به شاهد کاهش یافت و بین سطح ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات تنش خشکی و محلول‌پاشی پرولین بر محتوای رطوبت، کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها در پایه UCB1

Table 1- ANOVA for the effects of drought stress and proline application on moisture content, chlorophyll a, b, total and carotenoids in UCB1 rootstock

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean squares: رطوبت برگ Leaf moisture	رطوبت ساقه Stem moisture	رطوبت ریشه Root moisture	کلرفیل a Chl a	کلرفیل b Chl b	کلرفیل کل Chl T	کارتنوئیدها Carotenoids
خشکی Drought	2	483.9*	863.5*	2433.5**	1.36 **	0.19 **	2.53 **	0.13 **
پرولین Proline	2	287.0 ns	21.9 ns	308.7*	0.35 *	0.04 ns	0.62 *	0.01 ns
خشکی × پرولین Drought × Proline	4	669.7*	877.6*	214.2 ns	0.01 ns	0.04 ns	0.04 ns	0.01 ns
خطا Error	18	182.7	260.3	100.5	0.07	0.03	0.12	0.01
CV (%)		12.7	9.7	17.5	3.2	4.9	3.8	7.6

ns، ** و * به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively

در شرایط محدود آب، قدرت جذب ریشه کاهش یافته و دسترسی به آب و مواد غذایی کمتر می‌شود و درصد رطوبت ریشه کاهش می‌یابد. همچنین در شرایط تنش‌خشکی روزنه‌ها بسته شده و منجر به کاهش جذب آب توسط ریشه گیاه می‌گردد زیرا در چنین شرایطی انرژی لازم برای جذب آب وجود ندارد (Farooq *et al*., 2009; Bolat *et al*., 2014). کاهش غلظت رنگیزه‌های گیاهان UCB1 در شرایط تنش خشکی با پژوهش خویردی و همکاران (Khoyerdi *et al*., 2016) بر روی پایه‌های مختلف پسته در شرایط تنش خشکی مطابقت دارد. کاهش در محتوای کلروفیل ممکن است به دلیل کاهش سنتز کلروفیل، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده کلروفیل (کلروفیلاز) و تخریب مولکولی کلروفیل به علت جدا شدن زنجیره فیتولی از حلقه پورفیرین در اثر تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد (Parvaiz and Satyawati, 2008). از طرفی با توجه به افزایش نشت الکترولیت‌ها در اثر تنش خشکی ممکن است کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی به علت تخریب غشاء کلروپلاست و تیلاکوئیدها باشد (Hussain *et al*., 2008; Giri *et al*., 2002; Parvaiz and Satyawati, 2008). افزایش غلظت پرولین در شرایط تنش می‌تواند باعث کاهش کلروفیل گردد زیرا پرولین و کلروفیل دارای پیش ماده مشترک (گلوتامات) می‌باشند و خشکی باعث تحریک تولید پرولین با افزایش فعالیت گلوتامین کیناز می‌شود (Verbruggen and Hermans, 2008). کاهش محتوای کارتنوئیدها در شرایط تنش شدید خشکی ممکن است به علت آسیب‌های اکسیداتیو باشد زیرا آن‌ها به تخریب اکسیداتیو بسیار حساس می‌باشند (Fattahi *et al*., 2015). استفاده از محلول‌پاشی برگی پرولین با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آب باعث افزایش نسبت وزن خشک شاخساره به ریشه و درصد رطوبت ریشه نسبت به شاهد شد، همچنین محتوای کلروفیل a نیز با افزایش غلظت پرولین افزایش یافت و تفاوت آن با شاهد معنی‌دار بود. هر دو سطح ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر پرولین باعث افزایش کلروفیل کل نسبت به گیاهان شاهد گردید. استفاده از تیمار پرولین باعث افزایش غلظت کلروفیل a و کل شد. افزایش کلروفیل در اثر محلول‌پاشی پرولین ممکن است به نقش پرولین در پایداری پروتئین‌ها و غشاء برگردد که از طریق باندهای هیدروژن‌دار با پلی‌پپتیدهای قطبی و فسفولیپیدها ایجاد می‌شود (Weiss, 2000). پرولین با فسفولیپیدهای غشاء ارتباط برقرارکرده و از طریق کاهش رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش خشکی، از غشاهای سلولی محافظت می‌کند. بنابراین این احتمال می‌رود که کاهش نشت الکترولیت‌ها در اثر محلول‌پاشی پرولین به علت تخریب کمتر غشاء (پایداری غشاء) باشد که نهایتا باعث تخریب کمتر کلروفیل شده است (Bandurska, 2001).

جدول ۲- اثرات ساده تنش خشکی و محلول‌پاشی پرولین بر رطوبت ریشه، کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها در پایه UCB1

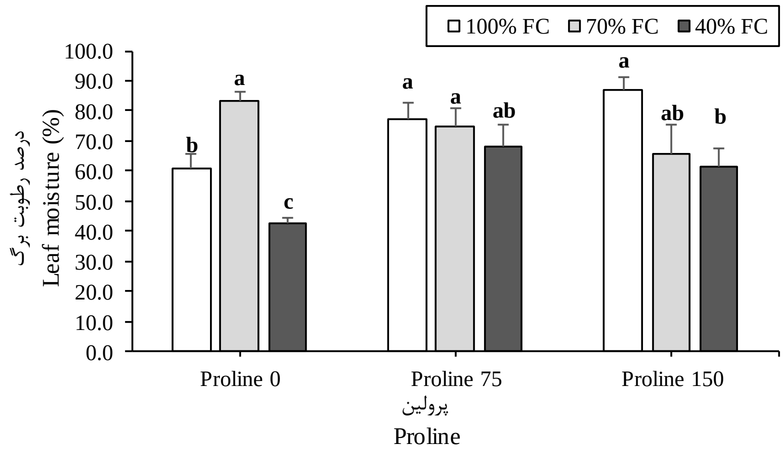
Table 2- The effects of drought stress and proline application on the root moisture, chlorophyll a, b, total and carotenoids in UCB1 rootstock

تیمارها Treatment	وزن خشک شاخساره به ریشه Shoot to root DW	رطوبت ریشه Root moisture (%)	کلرفیل a Chl a ($mg.g^{-1}$ FW)	کلرفیل b Chl b ($mg.g^{-1}$ FW)	کلرفیل کل Chl T ($mg.g^{-1}$ FW)	کارتنوئیدها Carotenoid ($mg.g^{-1}$ FW)
Drought خشکی						
100% FC	1.08^{a}	75.5^{a}	1.54^{a}	0.55^{a}	2.08^{a}	0.84^{a}
70% FC	0.99^{a}	67.5^{a}	1.12^{b}	0.39^{ab}	1.50^{b}	0.85^{a}
40% FC	0.62^{b}	43.8^{b}	0.75^{c}	0.26^{b}	1.02^{c}	0.63^{b}
Proline پرولین						
0 PPm	0.70^{b}	56.5^{b}	0.92^{b}	0.32^{ns}	1.25^{b}	0.74^{ns}
75 PPm	0.75^{ab}	62.1^{ab}	1.18^{ab}	0.43^{ns}	1.62^{a}	0.76^{ns}
150 PPm	0.82^{a}	68.2^{a}	1.31^{a}	0.45^{ns}	1.75^{a}	0.82^{ns}

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

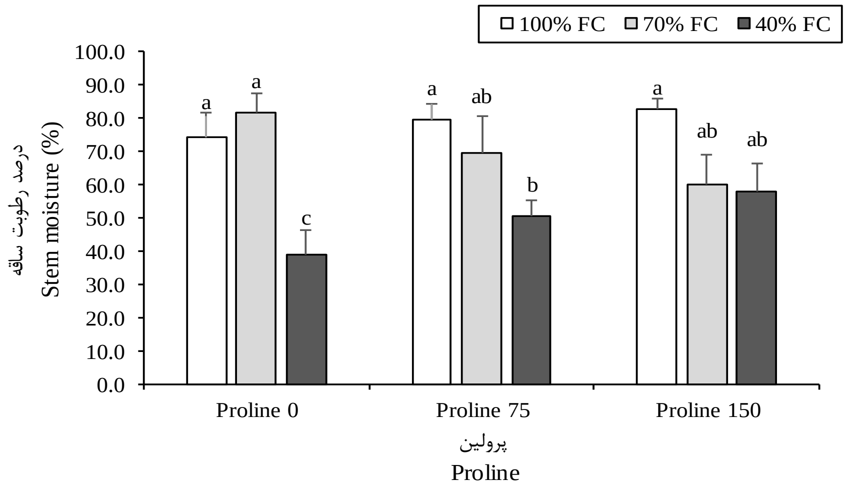
Means followed by the same letter within each column shows no significant differences among treatments at 5% of probability level based on Duncan's multiple rane test.

درصد رطوبت برگ در اثر تنش خشکی کاهش یافت و کمترین مقدار آن در سطح تنش ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و عدم محلول‌پاشی پرولین (شاهد) مشاهده شد (شکل ۱). محلول‌پاشی پرولین باعث افزایش درصد رطوبت برگ نسبت به شاهد گردید اما در سطح ۷۵ درصد ظرفیت زراعی تفاوتی بین تیمار پرولین و عدم تیمار وجود نداشت (شکل ۱). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد درصد رطوبت ساقه در اثر تنش خشکی در گیاهان شاهد و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر آب پرولین کاهش یافت و کمترین درصد رطوبت ساقه مربوط به تیمار ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و عدم محلول‌پاشی برگی پرولین (شاهد) بود. در محلول‌پاشی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آب پرولین بین سطح ۱۰۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی تنش خشکی از نظر درصد رطوبت ساقه تفاوت وجود داشت که از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار گردید (شکل ۲). کاهش میزان رطوبت اندام‌ها در شرایط محدودیت آبیاری، ممکن است به علت بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تعرق باشد که نهایتا منجر به کاهش انرژی لازم برای جذب آب می‌شود (Rahneshana *et al.*, 2018). همچنین در شرایط تنش، ظرفیت رشد ریشه‌ها کاهش یافته و مناطق کمتری از خاک را پوشش می‌دهند. بنابراین ظرفیت گیاه برای جذب آب کمتر شده و سبب کاهش میزان رطوبت خواهد شد (Chelli-Chaabouni *et al.*, 2010;Rahneshana *et al.*, 2018). افزایش درصد رطوبت اندام‌ها در اثر محلول‌پاشی پرولین به عنوان املاح سازگار به نقش تنظیم‌کننده اسمزی پرولین و حفاظت از واکنش‌های فیزیولوژیک برمی‌گردد که با کاهش پتانسیل اسمزی در بافت‌های مختلف باعث ایجاد نیروی لازم جهت جذب آب شده و تحمل بهتر به تنش خشکی را در گیاهان القاء می‌کند (Verbruggen and Hermans, 2008).



شکل ۱- اثر متقابل تنش خشکی × محلول‌پاشی پرولین بر درصد رطوبت برگ پایه UCB1

Figure 1- The interaction effect of drought stress ×proline spraying on the leaf moisture (%) of UCB1 rootstock (DMRT, *p≤0.05*)



شکل ۲- اثر متقابل تنش خشکی × محلول‌پاشی پرولین بر درصد رطوبت ساقه پایه UCB1

Figure 2- The interaction effect of drought stress ×proline spraying on the stem moisture (%) of UCB1 rootstock (DMRT, *p≤0.05*)

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی پرولین بر اسمولیت‌ها، محتوای نسبی آب برگ و نشت الکترولیت‌ها در پایه UCB1

Table 3- ANOVA for the effect of drought stress and proline application on osmolytes, RWC and electrolyte leakage in UCB1 rootstock

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares							
		گلایسین بتائین برگ Leaf glycine betaine	گلایسین بتائین ریشه Root glycine betaine	قند محلول برگ Leaf soluble sugar	قند محلول ریشه Root soluble sugar	پرولین برگ Leaf Proline	پرولین ریشه Root proline	محتوای نسبی آب برگ RWC	نشت الکترولیت Electrolyte leakage
خشکی Drought	2	28297.5**	19808.6*	24269652**	3126723*	37267.9**	26814.7**	4794.2**	1337.4**
پرولین Proline	2	50530.3 *	2825.1 ns	4933350 ns	1150121 ns	61520.4*	3231.1*	798.5*	591.1*
خشکی × پرولین Drought × Proline	4	5871.4 ns	9112.1 ns	2683075 ns	26852 ns	6881.6 ns	9715.6 ns	98.4 ns	20.7 ns
خطا Error	18	12027.7	5281.9	1983106	732090	19037.5	6172.7	217.2	143.5
CV (%)		15.8	12.4	7.1	15.3	17.6	21.3	14.3	6.9

ns، ** و * به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, significant at *p≤0.01* and *p≤0.05*, respectively

با توجه به جدول آنالیز واریانس، اثر ساده تنش خشکی بر گلایسین‌بتائین، قندمحلول و پرولین برگ و ریشه، محتوای نسبی آب برگ (RWC) و نشت الکترولیت‌ها و اثر ساده محلول‌پاشی برگی پرولین بر گلایسین بتائین برگ، پرولین برگ و ریشه، RWC و نشت الکترولیت معنی‌دار بود (جدول ۳).

براساس نتایج بدست آمده محدودیت آبیاری (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) باعث افزایش گلایسین بتائین برگ و ریشه، قند محلول برگ و ریشه و نشت الکترولیت‌ها شد اما RWC کاهش یافت (جدول ۴). در شاخص‌های گلایسین بتائین، قند محلول و نشت الکترولیت‌ها تفاوت معنی‌داری بین شاهد با تنش خشکی در سطح ۷۰ درصد ظرفیت زراعی وجود نداشت. در اثر تنش شدید خشکی میزان RWC در مقایسه با شاهد ۵۸ درصد کاهش و نشت الکترولیت‌ها ۳۰/۷ درصد

افزایش یافت. در اثر محلول‌پاشی برگی پرولین میزان گلایسین بتائین برگ و نشت الکترولیت‌ها نسبت به شاهد کاهش یافت و RWC افزایش یافت. بیشترین محتوای نسبی آب برگ و کمترین نشت الکترولیت در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر پرولین مشاهده شد (جدول۴). در اثر اعمال محدودیت در آبیاری محتوای پرولین برگ و ریشه به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. پرولین ریشه در هردو سطح ۷۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی با یکدیگر متفاوت بود اما در ارتباط با پرولین برگ بین این سطوح از تنش خشکی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۳). نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از محلول‌پاشی پرولین در غلظت‌های ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر در هردو اندام ریشه و برگ باعث افزایش پرولین درونزاد شد و این میزان افزایش در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سطح ۷۵ میلی‌گرم در لیتر پرولین بیشتر بود (شکل ۳). کاهش نشت الکترولیت‌ها در اثر محلول‌پاشی پرولین به نقش آن در تنظیم فشار اسمزی سلول و حفاظت از پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و غشای سلول بر می‌گردد. از طرفی کاربرد خارجی پرولین باعث حفظ پتانسیل اسمزی در سلول‌های گیاهی شده و آماس سلولی و افزایش محتوای نسبی آب را در پی دارد (Shao *et al*., 2008). کاهش RWC و افزایش نشت الکترولیت در شرایط تنش خشکی به علت کاهش عرضه آب و افزایش نفوذپذیری غشای پلاسمایی است، در چنین شرایطی محلول‌پاشی پرولین با تنظیم اسمزی و کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد O_2^- و H_2O_2 باعث حفظ RWC در حد مناسب برای گیاه و کاهش نشت الکترولیت‌ها (آسیب به غشای پلاسمایی) می‌گردد (Khaled *et al*., 2020).

تجمع املاح آلی سازگار مانند پرولین، گلایسین بتائین و قندهای محلول در شرایط تنش خشکی در گیاهان مختلف، از جمله پایه‌های دیگر پسته گزارش شده است (Khoyerdi Hussain *et al*., 2008 ; *et al*., 2016; Kumar *et al*., 2017). همچنین پرولین خارجی باعث افزایش میزان پرولین داخلی گیاه در برگ و ریشه شد که با نتایج آزمایشات دیگر (Roozbehani *et al*., 2018 ; Mohammadrezakhani *et al*., 2019) مطابقت دارد. این املاح سازگار که دارای وزن مولکولی کم، غلظت‌های بالا و غیرسمی در سیتوسول می‌باشند، عمده‌ترین راهکار گیاهان برای تحمل شرایط تنش هستند. افزایش سنتز پرولین در شرایط تنش خشکی نیازمند مصرف انرژی است و درصورت ادامه افزایش تولید پرولین ممکن است سایر فعالیت‌ها و متابولیسم‌های گیاهی را تحت تاثیر قرار دهد. از طرف دیگر ممکن است افزایش پرولین منجر به تجزیه پروتئین‌ها گردد (Farooq *et al*., 2015;Habibi *et al*., 2010) که ممکن است کاهش غلظت گلایسین بتائین در اثر محلول‌پاشی پرولین (۱۵۰میلی‌گرم درلیتر) هم به خاطر همین مسئله باشد، در حالی که تنش خشکی باعث افزایش غلظت گلایسین‌بتائین گردید. تاثیر پرولین و دیگر مواد محلول سازگار، به دلیل نقش آن‌ها به عنوان اسمولیت و تخریب کننده رادیکال‌های آزاد است که منجر به بهبود خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی در شرایط تنش خشکی می‌شود (Okuma *et al*., 2004; El-Nashaar *et al*., 2020; Abdelaal *et al*., 2020). در زمان تجمع املاح محلول، پتانسیل اسمزی سلول‌ها کاهش می‌یابد که این حالت آب را به داخل سلول جذب می‌کند و باعث حفظ حالت تورژسانس می‌شود (Farooq *et al*., 2015). با این تدبیر فعالیت‌های سیتوپلاسمی حفظ شده و کمک می‌کند تا گیاه به‌طور کارآمدتری شرایط محدودیت آب را تحمل کند.

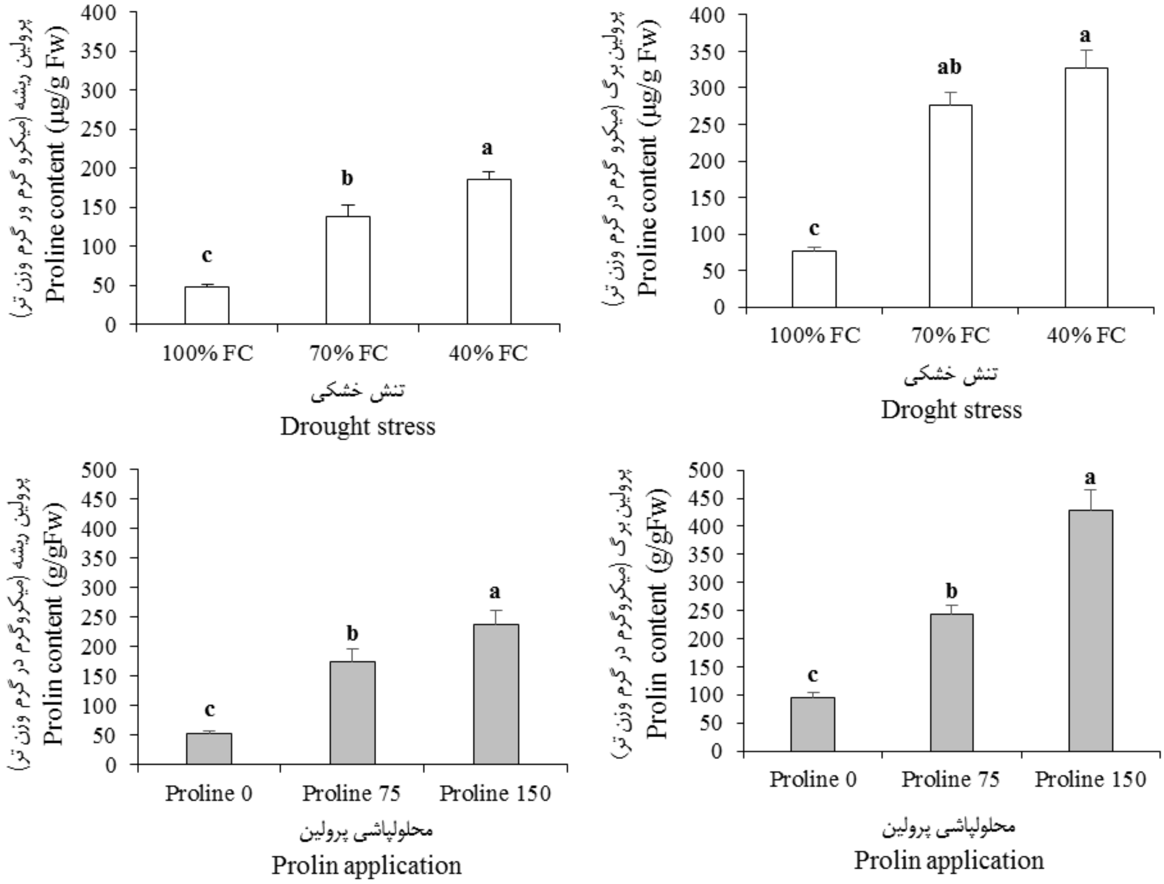
جدول ٤- اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی پرولین بر اسمولیت‌ها، محتوای نسبی آب برگ و نشت الکترولیت‌ها در پایه UCB1

Table 4- The effect of drought stress and proline application on osmolytes, RWC and electrolyte leakage in UCB1 rootstock

تیمارها **Treatment**	گلایسین بتائین برگ **Leaf glycine betaine**	گلایسین بتائین ریشه **Root glycine betaine**	قند محلول برگ **Leaf soluble sugar**	قند محلول ریشه **Root soluble sugar**	محتوای نسبی آب برگ **RWC**	نشت الکترولیت **Electrolyte leakage**
خشکی Drought						
100% FC	256.1^{b}	198.3^{ab}	2611.5^{b}	2122.6^{b}	79.3^{a}	54.5^{b}
70% FC	306.9^{b}	165.2^{b}	3792.1^{b}	25.5.2^{ab}	56.8^{b}	63.9^{b}
40% FC	436.9^{a}	257.8^{a}	5855.9^{a}	3279.5^{a}	33.2^{c}	78.7^{a}
Prolineپرولین						
0 PPm	407.5^{a}	227.3^{ns}	4919.8^{ns}	3032.9^{ns}	47.3^{b}	73.5^{a}
75 PPm	334.7^{ab}	193.9^{ns}	3835.1^{ns}	2534.4^{ns}	56.7^{ab}	66.3^{ab}
150 PPm	257.7^{b}	200.1^{ns}	3504.5^{ns}	2339.9^{ns}	65.3^{a}	57.3^{b}

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter within each column shows no significant differences among treatments at 5% of probability level based on Duncan’s multiple range test.



شکل ۳- اثر ساده تنش خشکی و محلول‌پاشی پرولین بر محتوی پرولین برگ و ریشه پایه UCB1

Figure 3- The effect of drought stress and proline spraying on the leaf and root proline of UCB1 rootstock (DMRT, *p≤0.05*)

نتیجه‌گیری

در این تحقیق درصد رطوبت اندام‌های ریشه، برگ و ساقه، غلظت رنگیزه‌های کلروفیل و کارتنوئید و RWC در اثر تنش خشکی کاهش و تنظیم کننده‌های اسمزی مانند قند محلول، گلایسین‌بتائین و پرولین و نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت. با این وجود محلول‌پاشی برگی پرولین باعث بهبود نسبت وزن خشک شاخساره به ریشه، درصد رطوبت برگ و ریشه و RWC و کاهش نشت الکترولیت‌ها گردید. بنابراین با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاربرد غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم درلیتر آب پرولین خارجی اثربخشی مناسب در کاهش اثرات خسارت‌بار تنش خشکی در پایه‌های پسته UCB1 دارد.

منابع

1. Alkahtani, M.D.F., Hafez, Y.M., Attia, K., Rashwan, E., Husnain, L.A., AlGwaiz, H.I.M., & Abdelaal K.A.A. (2021). Evaluation of silicon and proline application on the oxidative machinery in drought-stressed sugar beet. *Antioxidants*, *10*, 398.
2. Abdelaal, K.A.A., Attia, K.A., Alamery, S.F., El-Afry, M.M., Ghazy, A.I., Tantawy, D.S., Al-Doss, A.A., El-Shawy. E.S.E., Abu- Elsaoud. A.M., & Hafez. Y.M. (2020). Exogenous application of proline and salicylic acid can mitigate the injurious impacts of drought stress on barley plants associated with physiological and histological characters. *Sustainability*, *12*, 1736.
3. Abdelaal, K.A.A., Hafez, Y.M., El-Afry, M., Tantawy, D.S., & Alshaal, T. (2018). Effect of some osmoregulators on photosynthesis, lipid peroxidation, antioxidative capacity, and productivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) under water deficit stress. Environ. *Science and Pollution Research*, *25*, 30199–30211. https://doi.org/10.1007/s11356-018-3023-x
4. Abdelaal, K.A.A., Mazrou, Y.S., & Hafez, Y.M. 2020. Silicon foliar application mitigates salt stress in sweet

pepper plants by enhancing water status, photosynthesis, antioxidant enzyme activity and fruit yield. *Plants, 9*, 733.

5. Ali, Q., Ashraf, M., & Athar, H.R. (2007). Exogenously applied proline at different growth stages enhances growth of two maize cultivars grown under water deficit conditions. *Pakistan Journal of Botany, 39*, 1133-1144.
6. Arakawa, K., Katayama, M., & Takabe, T. (1990). Levels of betaine and betaine aldehyde dehydrogenase activity in the green leaves, and etiolated leaves and roots of barley. *Plant Cell Physiology*, *31*(6), 797–803.
7. Bagheri, V., Shamshiri, M.H., Shirani, H., & Roosta, H. R. (2012). Nutrient uptake and distribution in mycorrhizal pistachio seedlings under drought stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *14*, 1591–1604.
8. Bandurska, H. (2001). Does proline accumulated in leaves of water stressed barley plants confine cell membrane injury? I. Free proline accumulation membrane injury index in drought and osmotically stressed plant. *Acta Physiologiae Plantarum, 22*, 409-415.
9. Bastam, N., Baninasab, B., & Ghobadi C. 2013. Improving salt tolerance by exogenous application of salicylic acid in seedlings of pistachio. *Plant Growth Regulation*, *69*, 279-284. https://doi.org/10.1007/s10725-012-9770-7
10. Ben Ahmed, C., BenRouina, B., Sensoy, S., Boukhriss, M., & Ben Abdullah, F. (2010). Exogenous proline effects on photosynthetic performance and antioxidant defense system of young olive tree. *Journal of Agriculture and Food Chemistry, 58*, 7. https://doi.org/10.1021/jf9041479
11. Bolat, I., Dikilitas, M., Ercisli, S., Ikinci, A., & Tonkaz T. (2014). The effect of water stress on some morphological, physiological, and biochemical characteristics and bud success on Apple and Quince rootstocks. *Scientific World Journal*, 769732, 8 pages.
12. Chelli-Chaabouni, A., Mosbah, A. B., Gargouri-Bouzid, R., & Drira, N. (2010). In vitro salinity tolerance of two pistachio rootstocks: *Pistacia vera* L. and *P. atlantica* Desf. *Environmental and Experimental Botany*, *69*, 302–312.
13. El-Nashaar, F., Hafez, Y.M., Abdelaal, K.A.A., Abdelfatah, A., Badr, M., El-Kady, S., & Yousef, A. (2020). Assessment of host reaction and yield losses of commercial barley cultivars to Drechslera trees the causal agent of net blotch disease in Egypt. *Fresenius Environmental Bulletin and Advances in Food Sciences*, *29*, 2371–2377.
14. Khoyerdi, F., Shamshiri, M.H., & Estaji, A. (2016). Changes in some physiological and osmotic parameters of several pistachio genotypes under drought stress. *Scientia Horticulturae, 198*, 44–51.
15. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S.M.A. (2009). Plant drought stress effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, *29*, 185-212.
16. Fattahi, M., Shamshiri, M., & Esmaeilizade, M. (2015). Leaf physiomorphological responses of three mycorrhizal Pistachio rootstocks (Sarakhs, Abareqi and Bane-baqi) to salt stress. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, *15*, 469-482. (In Persian with English abstract)
17. Ferguson, L., Reyes, H., Sanden, B., Grattan, S., Epstein, L., & Krueger, B. (2005). *Pistachio rootstocks*. In: Ferguson, L. (Ed.), Pistachio Production Manual. Center for Fruit and Nut Research and Information, Davis, pp. 67–73.
18. Ghaffaria, H., Tadayona, M.R., Bahadora, M., & Razmjoo, J. (2021). Investigation of the proline role in controlling traits related to sugar and root yield of sugar beet under water deficit conditions. *Agriculture Water Management*, *2021*, 243.
19. Giri, B.R., & Mukerji, K.G. (2002). *VA mycorrhizal techniques/VAM technology in establishment of plants under salinity stresses condition.* Techniques in mycorrhizal studies, Kluwer, Dordrecht, pp. 313-327.
20. Godoy, F., Olivos-Hernández, K., Stange, C., & Handford, M. (2021). Abiotic stress in crop species: improving tolerance by applying plant metabolites. *Plants*, *10*, 186.
21. Habibi, D., Ardakani, M.R., Mahmoudi, A., & Asgharzadeh, A. (2010). *Effects of super absorbent polymer and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and oxidative damage of maize under drought stress*. International Conference on Chemistry and Chemical Engineering Pp: 253-257.
22. Hussain, M., Malik, M.A., Farooq, M., Ashraf, M.Y., & Cheema, A. (2008). Improving drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower. *Journal of Agronomy and Crop Science, 194*, 193–199.
23. Irigoyen, J.J., Emerich, D.W., & Sanchie, M.D. (1992). Water stress induced changeing concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plant Arum, 84*, 67-72.
24. Kaur, G., & Asthir, B. (2015). Proline: A key player in plant abiotic stress tolerance. *Biologia Plantarum, 59*, 609–619.
25. Khaled, A.A., Abdelaal, K.A., Attia, S.F., Alamery, M.M., El-Afry A.I., Ghazy D.S., Tantawy A.A., Al-Doss E., El-Shawy A.M., & Yaser M.H. 2020. Exogenous application of proline and salicylic acid can mitigate the injurious impacts of drought stress on barley plants associated with physiological and histological characters. *Sustainability*, *12*, 257. 1736. https://doi.org/10.3390/su12051736
26. Kumar, D., Al Hassan, M., Naranjo, M.A., Agrawal, V., Boscaiu, M., & Vicente, O. (2017). Effects of salinity and drought on growth, ionic relations, compatible solutes and activation of antioxidant systems in oleander (*Nerium oleander* L.). *PLoS ONE, 12*(9), e0185017. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185017

27. Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods of Enzymology, 148*, 350-380.
28. Mohammadrezakhani, S., Hajilou, J., Rezanejad, F., & Zaare-Nahandi, F. (2019). Assessment of exogenous application of proline on antioxidant compounds in three Citrus species under low temperature stress, *Journal of Plant Interactions, 14*(1), 347-358.
29. Okuma, E., Murakami, Y., Shimoishi, Y., Tada, M., & Murata, Y. (2004). Effect of exogenous application of proline and betaine on the growth of tobacco cultured cells under saline conditions. *Soil Science and Plant Nutrition*, *50*(8), 1301-1305.
30. Paquin, R., & Lechasseur, P. (1979). Observations sur un method de dosage de lapraline libre dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany, 57*, 1851–1854.
31. Parvaiz, A., & Satyawati, S. (2008). Salt stress and Phyto-biochemical responses of plants. *Plant Soil Environment, 54*, 89-99.
32. Rahneshana, Z., Nasibia, F., & Ahmadi Moghadam, A. (2018). Effects of salinity stress on growth, physiological, biochemical parameters and nutrients in pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. *Journal of plant Interactions, 1*, 73–82. https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1424355
33. Raoufi, A., Rahemi, M., Salehi, H., & Pessarakli, M. (2020). *Pistacia vera* L. genotypes; a potential rival for UCB-1 rootstock for cultivating under salt stress conditions. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 101515. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101515
34. Roozbehani, F., Mosavi Fard, S., & Rezaeinejad, A. (2018). *The effect of proline on some morphophysiological, physiological and biochemical properties of two varieties of Impatiens walleriana under salinity stress.* M.Sc. thesis. University of Lorestan. (In Persian).
35. Shao, H.B., Chu, L.Y., Shao, M.A., Abdul Jaleel, C. & Hong-Mei, M. (2008). Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. *Comptes Rendus Biologie,s 331*, 433–441.
36. Taylor, B. (1996). Proline and water deficit: ups, downs, ins and outs. *The Plant Cell, 8*, 1221-1224.
37. the, C.Y., Shaharuddin, N.A., Ho, C.L., & Mahmood M. (2016). Exogenous proline significantly affects the plant growth and nitrogen assimilation enzymes activities in rice (*Oryza sativa*) under salt stress. *Acta Physiology Plant, 38*, 151.
38. Verbruggen, N., & Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids, 35*, 753-759.
39. Volkmar, K.M., & Steppuhn, H. (1997). Physiological responses of plants to salinity: a review. *Canadian Journal of plant Science, 78*, 19-27.
40. Weiss, E.A. (2000). *Oilseed Crops,* 2nd Edition. Blackwell Sc. Ltd., Bodmin, UK. Bilimleri Dergisi 28, 14-27.